云 南 植 物 研 究 5(1):83—90, 1983
Acta Botanica Yunnanica

天麻的第二营养来源研究*

庄 毅 王荣珍 张卫芳 秦明珠
(南京中医学院中草药教研组)

谢宗传 陈 禹 陈燮权
(江苏农科学院理化室)

邵亚男 郑如兰
(南京医学院基础同位素应用组)

摘 要

用同位素 ^{32}P、^{15}N、^{86}Rb 标记技术，证实天麻除必需由蜜环菌获得营养外，还能从土壤养分中得到补充营养，可称为第二营养来源。土壤养分（肥料）可通过蜜环菌或天麻表皮进入天麻体内（参与天麻代谢生理活动），可能影响天麻和蜜环菌的关系和天麻生长，因此研究天麻施肥技术和对产量、质量的影响是很有意义的。

一、引 言

天麻 *Gastrodia elata* Bl. 属兰科，多年生草本植物，它没有根和绿叶，块茎长期埋生土内，顶芽分化完成后可抽出地上茎，形成总状花序，蒴果内有大量细小种子，种皮内有胚，无胚乳[1]。

天麻没有一般植物所具有的根、叶二种营养器官，将天麻块茎栽种土内，它只能消耗自身营养而生长，其子麻逐代变小终于消亡。过去的研究资料都认为天麻仅依靠一种生长于多种树桩上的兼性寄生菌——蜜环菌 *Armillariella mellea* (Vahl ex Fr.) Karst. 供应其营养而生长[2—3]；蜜环菌在树桩上分解纤维素等摄取营养，其菌索侵入天麻块茎，被它的某些细胞分解，吸收作为营养，天麻才能正常生长发育。研究土壤养分能否成为天麻第二营养来源，对研究天麻营养生长，提高其产量、质量有重大意义。

由于天麻特殊的营养方式，影响其生长、产量的因素复杂，其中天麻和蜜环菌的关系是关键，因此补充土壤养分的处理组和对照组，即使都栽种同等数量的天麻，也会因与蜜环菌结合情况的差异而无法根据其产量来判断施肥效果。因此采用同位素标记技术研究天麻的第二营养来源问题及其施肥效果是适宜的。同位素选用 ^{32}P、^{15}N和^{86}Rb，以原

本文于1982年1月20日收到。

* 本文承南京中医学院孙鹤年先生、昆明植物研究所周铉先生指导并审阅全文，中国科学院南京土壤研究所徐永福同志给予很多帮助，特此致谢。

产安徽大别山的红杆天麻作试验材料。

二、试验方法和结果

1.菌索和天麻对^{32}P的吸收和分布

1）^{32}P进入蜜环菌菌索的观察

方法：选取菌索旺盛的菌材三段（约4×6公分）。

A段：横放于烧杯内湿润珍珠岩上，于其一端0.5公分处打一直径1公分，深1.5公分的小孔，插入1公分直径玻璃管一段。

B段：菌材一端插入烧杯湿润珍珠岩中约4公分，上端打孔，插入玻璃管一段。

C段：菌材一端垂直放在250毫升烧杯内，杯内放蒸馏水100毫升，菌材上端中央打孔，插入玻璃管一段。

在三段玻璃管内分别点入0.5毫升$NaH_2{}^{32}PO_4$（比强1.15mc/ml）。五天后分别选取远离玻璃管处菌索，以流水冲洗10分钟后吸去水分，夹于二层Whatman N0.1滤纸间，60°C烘干后与x光片接触曝光，六天后用D19b显影酸性坚膜定影液定影，水洗晾干。观片，见所取三段菌材的菌索上均有放射性分布，以基部和分枝处放射性较强。

实验证明$NaH_2{}^{32}PO_4$能进入蜜环菌菌索其分枝处及基部，放射性较强，分布有特异性（图1）。

2）^{32}P进入天麻的观察

方法：选取长5公分白麻二个，分别插入0.5公分于A、B二杯中。

A杯：$NaH_2{}^{32}PO_4$ 4毫升（总强250uci），

B杯：$NaH_2{}^{32}PO_4$ 4毫升（总强250uci）及珍珠岩1克

二杯均置于26°C恒温室中，保持环境一定温湿度。

宏观自显影：五天后取天麻游离端约0.5公分一段，用刀片削取薄片夹于二层Whatman No. 1滤纸间，60°C烘干后x光片接触曝光24小时后，用D19b显影液(19°C 1分钟)，以酸性坚膜定影液定影水洗，晾干。观片：A、B二杯的天麻徒手切片宏观影象上均见有放射性分布，以皮层最多，A杯水培养天麻切片中央部位可见点状放射性聚集（见图2）。

放射性测量：标记一个月后，取下部分游离端天麻标本，按表皮、皮层、中柱三部份分开，晾干后作放射性测量。FH408定标器，配合J141αβ钟罩管，工作电压1200V，甄别1：1，本底1136脉冲/100分钟，结果见表1。

同时以醋酸氧铀-过氯酸法作进入天麻的^{32}P状态分析。

结果：从表1可见无论水培或珍珠岩培养的磷酸二氢根($H_2{}^{32}PO_4^-$)都能进入天麻。表皮、皮层较多，中柱较少。进入天麻的^{32}P，未发现能转变成有机磷状态。

2.研究天麻和蜜环菌间营养供输关系和生长中天麻吸收体外养分的能力

1）实验方法：盆栽无土培育法，将瓦盆（60×35×20公分）底部打二个排水孔，铺黄砂一层，上面放4×35公分菌材一根，待菌索和天麻的一端结合后，将天麻轻轻插入垂直的指形管内，其顶端仍联有菌索，天麻和环境隔离。置于地下室适宜条件下培育四

个月，天麻可以生长。

表1 ^{32}P进入天麻样本放射强度（脉冲数/分）

组 别	部位名称	样本重 mg	放射性强度	折合10mg 样本强度
A 杯	表 皮	25.0	11470	4588
	皮 层	18.4	2240	3880
（水培）	中 柱	8.4	1458	1674
B 杯	表 皮	39.0	2404	618
	皮 层	101.8	2288	224
（珍珠岩培）	中 柱	53.4	614	116

2）A组标记菌材：菌材已于二端上面各打直径1公分深2公分小孔，分别插入长5公分的玻璃管，各注入$NaH_2{}^{32}PO_4$液0.4毫升（总强216uci）。

3）B组标记天麻：在插有1号天麻的指形管内仔细加入$NaH_2{}^{32}PO_4$0.2毫升（108uci），再加水15毫升，注意不可接触天麻上端菌索。

4）放射性测量：标记10天后在A组由菌材上，选远离玻璃管的菌索和指形管内天麻作测试材料。B组选菌材上菌索和2、3号天麻作测试材料。测量条件同上，样本干重20毫克，窗距3毫米。结果见表2。

表2 ^{32}P标记菌材，天麻放射性测定情况（脉冲数/分）

测量材料		A组标记菌材	B组标记天麻
菌 索		8782	1070
天 麻	皮 层	576	120
	中 柱	173	47

5）放射自显影：以上供测量天麻组织，石蜡切片厚约20μ，展片后涂1%醋酸戊酯火棉胶保护膜，暗室红灯下以1：1稀释核一4乳胶涂布均匀，暗室冷藏曝光一周后以D19b液显影，酸性坚膜定影水洗，晾干后快绿染色，封片。

显微观察：切片内细胞形态，组织结构完整，可见蜜环菌菌丝，放射性分布以皮层较多，薄壁细胞、维管束及菌丝上均可见分布不等的放射性感光银粒。

本实验证明天麻、蜜环菌间存在营养物质交流，但菌材营养由菌索供应天麻比菌索获得天麻体内营养数量多。已与蜜环菌菌索结合在生长中的天麻确实具有吸收体外营养如磷酸二氢根（$H_2{}^{32}PO_4^-$）的能力（见图3，4）。

3.天麻施肥试验

1）磷素营养

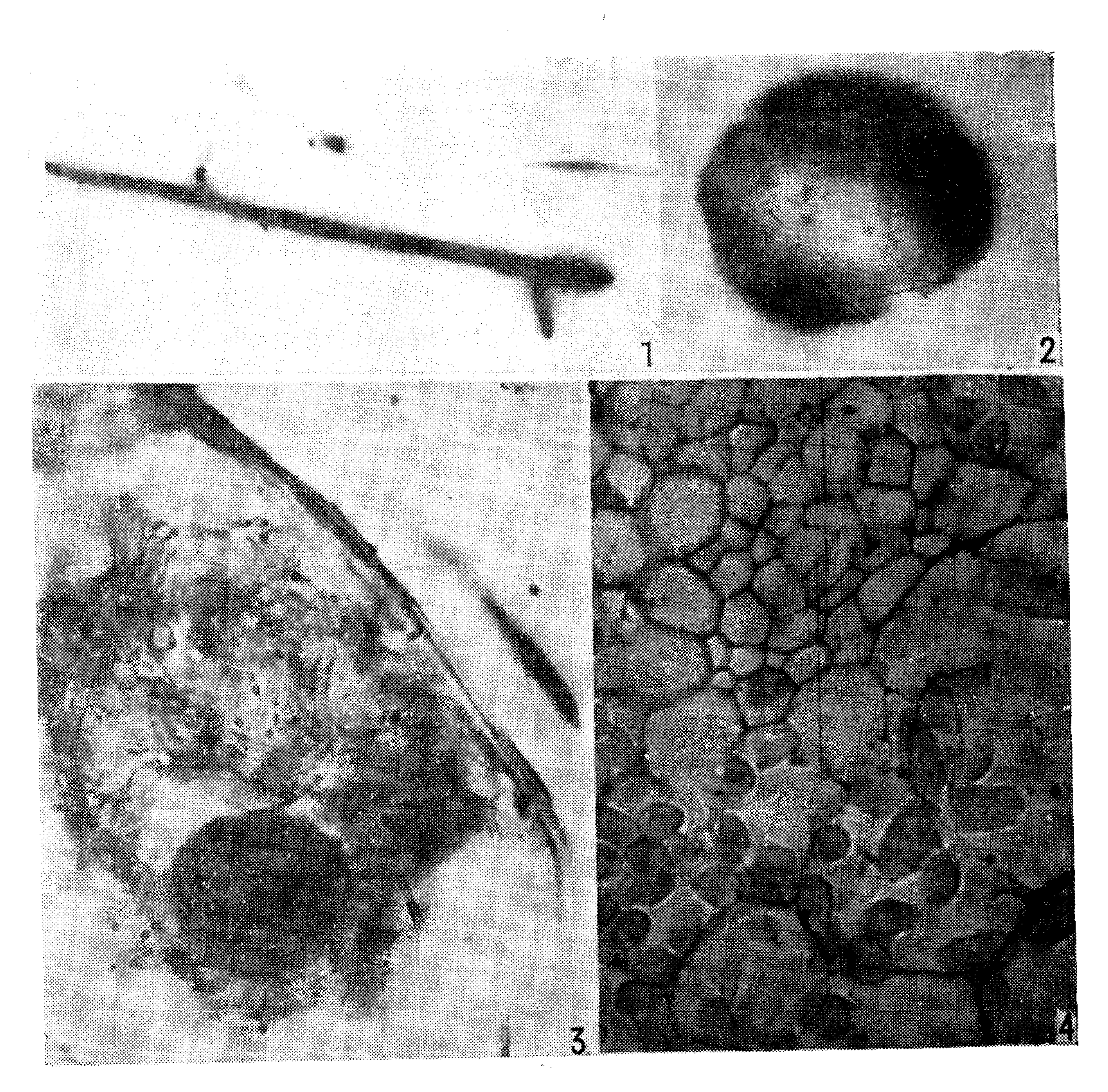


图1　宏观自显影，示蜜环菌菌丝具放射性。图2　宏观自显影，示天麻组织内的放射性分布。
图3　微观放射自显影，示天麻组织内蜜环菌菌丝上的感光银粒。图4　微观放射自显影，示天麻组织上的放射性感光银粒。

实验方法：三月间用盆栽无土培育法，每盆放菌材五根，种麻放在菌材边，至九月已长成箭麻、白麻和米麻。四盆共分二组。

处理组用 ^{32}P标记过磷酸钙施肥，过磷酸钙5克研碎，在不断搅拌情况下慢慢滴入 $KH_2{}^{32}PO_4$ 3毫升（比强1mc/ml）拌均匀，再掺入体积1：1的砂，木屑200毫升（体积），施肥时再和复盖天麻用的砂、木屑混合后均匀施于上述盆栽天麻上，对照组不施肥。二组在地下室内培育40天后取样测量。

测量方法：在处理组内选箭麻三只，白麻一只。清洗程序：自来水冲洗15分钟，0.1%柠檬酸浸1分钟，水冲洗，再在0.1% $KH_2{}^{32}PO_4$ 浸1分钟，冲洗15分钟，滤纸吸

干按天麻块茎的部位和组织分开后在60°C烘箱烘12小时后称重，每个天麻重复三次测量放射性强度，方法同上（样本干重20mg，本底脉冲10分钟）。结果见表 3。

表 3　　标记过磷酸钙施肥后天麻样品放射性强度（脉冲数/分）

部位		箭麻	白麻
顶芽	一层	614	—
	二层	624	—
	三层	632	—
	中心	1632	—
鳞片		492	300
表皮及外皮层		844	456
皮层		442	240
中柱	外层	156	—
	中层	220	200
	内层	236	196
过桥	外层	614	—
	内层	306	—

由表 3 可见天麻块茎各组织部位都有放射性，顶芽、表皮、外皮层和过桥部分较强，皮层次之，中柱最弱。

分析样本中示踪有机磷

用醋酸氧铀-过氯酸法分析箭麻中有机磷，结果见表 4。

表 4　　天麻体内^{32}P有机磷分析

组别	离心液层次	编号	1ml 取样液烘干后放射性强度（脉冲数/分）
处理组	上层液	51	306
		56	300
		58	164
	沉淀	52	196
		57	202
		59	80
对照组	CK_1	53	26.2
	CK_2	54	25.8
	CK_3	55	24.0

由表4可看出进入天麻块茎的磷可以转化为有机磷，说明磷已参与天麻代谢过程被天麻利用。

施磷肥与对照组天麻含磷、含氮量分析

施肥和对照组天麻样品经浓硫酸硝化成酱色，加过氧化氢还原成为白色后，冷却，定容500毫升，即进行全磷、全氮分析。全磷用钼兰比色法，全氮用克氏蒸馏法，结果见表5。

表5　施磷肥组和对照天麻全磷、全氮量比较

组别	处理		含磷 P_2O_5%	含氮 %	折成粗蛋白 %
施肥组	箭麻	1	0.1334	1.707	10.67
		2	0.02061	2.215	13.84
		3	0.02315	2.30	14.35
	白麻		0.0251	2.322	14.51
对照组	箭麻	5	0.0152	0.9099	5.69
		6	0.0145	0.9635	6.02
		7	0.0183	1.183	7.39
	白麻		0.0114	0.837	5.23

由表5可看出天麻施磷肥后块茎含磷和含氮量均有增加。

2）氮素营养

实验方法：三月用箱栽法，每箱用菌材五根，用黄砂、木屑作"土壤"栽种白麻，培育至九月选择肯定有天麻生长的各箱分为施肥组与对照组。

施肥组用 $(^{15}NH_4)_2SO_4$ 2克溶于500毫升蒸馏水，均匀洒于箱内"土壤"上，对照组只洒清水。

继续在地下室内培育50天至11月采样，二组各箱分别取用全部箭麻和白麻。

用质谱法测定 ^{15}N，用硒粉-硫酸铜-硫酸消化法测定全氮，结果见表6。

表6　天麻对氮素的吸收利用

处理	箱内天麻干重（克）	全氮（%）	总氮量(毫克/箱)	^{15}N/百分超	利用率%
1.施 $(^{15}NH_4)_2SO_4$	95.17	0.973	931.00	0.200	41.49
2.施 $(^{15}NH_4)_2SO_4$	79.95	1.013	809.89	0.162	29.23
3.对照	43.11	0.949	409.11	—	—
4.对照	80.01	0.989	791.30	—	—

由表6可见，在50天生长过程中天麻可以利用土壤中氮素，利用率达29.23—41.49%接近水稻对硫酸铵利用率，但与对照组相比全氮量几乎没有增加。

3）钾素营养

箱栽法同氮素营养，用 ^{86}Rb（铷）代替钾，于8月中旬在箱内天麻块茎周围“土壤”上洒 $^{86}RbCl$ 100微居里（溶于100毫升蒸馏水），重复三次，天麻继续培育34天，即采取各箱箭麻经冲洗后用其组织切片进行放射自显影，其方法与结果均如前述 ^{32}P，作放射性测量的天麻均削去表皮以免污染，烘干，磨碎用GM计数器测定放射强度，结果见表7。

表7　　^{86}Rb 进入天麻样品的强度（脉冲数/分）

组　别	周围施 $^{86}RbCl$ 天麻		距施 $^{86}RbCl$ 20公分处天麻	
	总重量（克）	总强度	总　重　量	总　强　度
1	5.20	11829	3.60	1625
2	6.12	14278	3.63	1535
3	4.20	11004	4.21	1855

由表7可见，天麻对 ^{86}Rb 吸收利用较高，且距离施肥点20公分外的天麻也吸收了。

三、讨　　论

历来认为天麻仅依靠生长在多种树木上的蜜环菌供营养而生长发育。人工培育天麻用菌材作为营养来源。

研究土壤养分是否可能作为天麻另一个营养来源，对天麻生产有重大意义。

采用同位素标记技术进行研究有灵敏度高、直观性强等优点。

用 ^{32}P 标记方法证明土壤中无机磷可以进入蜜环菌菌索，也能通过天麻块茎表皮进入体内，放射自显影和放射性强度测量都显示表皮、皮层含量较多，中柱含量较少，尚未发现天麻单独能转化利用磷。

天麻获得蜜环菌营养而正常生长时，磷能通过蜜环菌和天麻表皮进入天麻体内，参与天麻代谢生理活动，能被转化为有机磷，并使天麻的含磷量、含氮量都大大增加。施用 $(^{15}NH_4)_2SO_4$ 和 $^{86}RbCl$ 的情况与 $KH_2{}^{32}PO_4$ 的吸收情况是一致的，说明土壤中的N、P、K三要素都能被吸收，但施用 ^{15}N 后天麻总氮量并无增加，可能蜜环菌已供应天麻足够的氮素，土壤施氮肥并非必要。然而在施用磷、钾后是否需要按比例增加氮肥是另外的问题。钾素营养又进一步证实了天麻与蜜环菌的营养供输关系。以上土壤中的氮、磷、钾不论是直接进入天麻块茎还是由蜜环菌间接进入天麻，都构成为天麻的第二营养或补充营养，必然影响天麻的生理活动。由于天麻和蜜环菌可能直接或间接地利用土壤养分，还需要进一步研究二种营养来源的关系及其对天麻生长的影响。还应研究施肥的种类，用量和方法，以及对天麻产量、质量的影响。

参　考　文　献

〔1〕 中国医学科学院药物研究所，湖北省利川县国营福宝药材场编著 1973：天麻，人民卫生出版社。

〔2〕 Kusano. S., 1911; *Gastrodia elata* and its symbiotic Association with *Armillaria mellea*, *Jour. Coll. Agric. Tokyo*, 4 : 1—66.

〔3〕 张维经等，1980；天麻与蜜环菌的关系，植物学报 22(1)57—62.

A STUDY ON THE SOURCE OF SECONDARY NUTRIENTS FOR GASTRODIA ELATA BL.

Zhuang Yi, Wang Yongzhen, Zhang Weifang, Qin Mingzhu

(Department of chinese Herb-drug Pharmacenties, Nanjing College of Chinese Traditional Medicine)

Xie Zongchuan, Chen Yu, Chen Xiequan

(Department of Physics and Chemistry, Kiangsu Academy of Agricultural Science)

Shao Yanan, Zheng Rulan

(Basic Isotopic Laboratory, Nanjing Medical college)

Summary

Using isotopic labelling technique (with ^{32}P. ^{15}N. ^{86}Rb) , we demonstrated that *Gastrodia elata* Bl. might draw nutrients from the soil besides their main nutritional source *Armillariella mellea* (Vahl. ex Fr) Karst. Hence the soil may considered as its second nutritional source.

The nutritional components in the soil(fertilizer)are able to enter *Gartrodia elata* directly or indirectly though the mediation of *Armillariella mellea*. They may influence the interrelationship between *Gastrodia elata* and *Armillariella mellea*, and the growth of the former. Therefore, the study of the influence of fertilization technique on the yield and quality of *Gastrodia elata* is of significance.